

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**

INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation 5 :  A61K 9/127, 31/02, 31/025 A61K 31/13, 31/34		A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 94/00109  (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 6. Januar 1994 (06.01.94)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE93/00572		(74) Anwälte: WALTER, Wolf-Jürgen usw. ; Normannenstraße 1-2, D-10367 Berlin (DE).	
(22) Internationales Anmeldedatum: 24. Juni 1993 (24.06.93)		(81) Bestimmungsstaaten: AU, CA, CZ, FI, HU, JP, NO, NZ, PL, RO, SK, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).	
(30) Prioritätsdaten: P 42 21 268.5 26. Juni 1992 (26.06.92) DE		Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i>	
(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): LANCASTER GROUP AG [DE/DE]; Mainzer Str. 15, D-65185 Wiesbaden (DE).			
(72) Erfinder; und			
(75) Erfinder/Anmelder (nur für US) : GROSS, Udo [DE/DE]; Falkenberger Chaussee 91, D-13059 Berlin (DE). ZASTROW, Leonhard [DE/DE]; Grabenweg 13, D-65205 Wiesbaden-Nordenstadt (DE). RÖDING, Joachim [DE/DE]; Trompeterstr. 19, D-65207 Wiesbaden-Rambach (DE). STANZL, Klaus [DE/DE]; Im Eschbach 9d, D-56323 Waldesch (DE).			

(54) Title: DERMATOLOGICAL AGENT FOR AIDING OXYGEN TRANSPORT IN THE SKIN

(54) Bezeichnung: DERMATIKUM ZUR UNTERSTÜZUNG DES SAUERSTOFFTRANSPORTES IN DER HAUT

## (57) Abstract

A dermatological agent is disclosed for aiding the transport of oxygen in the skin, as well as a process for preparing the same and its use. The problem with the known dermatological agents is the insufficient oxygen supply to the skin and adjacent tissues. The object of the invention is thus to overcome the stratum corneum of the skin and the epidermis by penetration processes in order to increase the oxygen concentration in the corial zone and adjacent tissues and to activate the metabolic processes. For that purpose, a dermatological agent with asymmetrical lamellar aggregates consists of phospholipids and oxygen-loaded fluorocarbon or a fluorocarbon mixture. The proportion of fluorocarbon lies in a range from 0.2 to 100 % by weight/volume, in an excipient appropriate for dermatological uses. This dermatological agent is prepared by emulsifying its components and by using it in salves, creams, lotions, liquids, alcoholic extracts, pastes, powders, gels, tinctures or on plasters and bandages, or in a spray.

## (57) Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft ein Dermatikum zur Unterstützung des Sauerstofftransports in der Haut, ein Verfahren zu seiner Herstellung sowie die Verwendung desselben. Problem bei den bekannten Dermatika ist die unzureichende Sauerstoffversorgung der Haut und des angrenzenden Gewebes. Erfindungsaufgabe ist es daher, das Stratum corneum der Haut und die Epidermis durch Penetrationsvorgänge zu überwinden, um im corialen Bereich und angrenzendem Gewebe die Sauerstoffkonzentration zu erhöhen und Stoffwechselvorgänge zu aktivieren. Erfindungsgemäß erfolgt dies durch ein Dermatikum mit asymmetrischen lamellaren Aggregaten, bestehend aus Phospholipiden und mit Sauerstoff beladenem Fluorcarbon oder Fluorcarbongemisch, wobei der Anteil an Fluorcarbon im Bereich von 0,2 bis 100 % Gewicht/Volumen liegt, in einem für die dermatologische Anwendung geeigneten Träger. Die Herstellung erfolgt durch Emulgierung der entsprechenden Bestandteile und die Verwendung in Salben, Cremes, Lotionen, Wässern, alkoholischen Auszügen, Pasten, Pudern, Gelen, Tinkturen oder auf Verbänden und Pflastern bzw. in einem Spray.

**LEDIGLICH ZUR INFORMATION**

Code, die zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	FI	Finnland	MR	Mauritanien
AU	Australien	FR	Frankreich	MW	Malawi
BB	Barbados	GA	Gabon	NE	Niger
BE	Belgien	GB	Vereinigtes Königreich	NL	Niederlande
BF	Burkina Faso	GN	Guinea	NO	Norwegen
BG	Bulgarien	GR	Griechenland	NZ	Neuseeland
BJ	Benin	HU	Ungarn	PL	Polen
BR	Brasilien	IE	Irland	PT	Portugal
BY	Belarus	IT	Italien	RO	Rumänien
CA	Kanada	JP	Japan	RU	Russische Föderation
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SD	Sudan
CG	Kongo	KR	Republik Korea	SE	Schweden
CH	Schweiz	KZ	Kasachstan	SI	Slowenien
CI	Côte d'Ivoire	LI	Liechtenstein	SK	Slowakischen Republik
CM	Kamerun	LK	Sri Lanka	SN	Senegal
CN	China	LU	Luxemburg	TD	Tschad
CS	Tschechoslowakei	LV	Lettland	TC	Togo
CZ	Tschechischen Republik	MC	Monaco	UA	Ukraine
DE	Deutschland	MG	Madagaskar	US	Vereinigte Staaten von Amerika
DK	Dänemark	ML	Mali	UZ	Usbekistan
ES	Spanien	MN	Mongolei	VN	Vietnam

Dermatikum zur Unterstützung des Sauerstofftransportes in der Haut

Die Erfindung betrifft ein Dermatikum, das in den corialen Bereich der Haut sowie angrenzendes Gewebe penetriert und dabei eine verbesserte Sauerstoffversorgung in diesem Bereich erbringt.

In der US-A-4366169 (White) wird die Verwendung von Fluorcarbonen zur Behandlung von Hautverletzungen und Wunden, insbesondere von Verbrennungen, beansprucht. Dabei wird das sauerstoffhaltende Fluorcarbon entweder direkt oder als Emulsion auf die Haut, auf entsprechende Verbände oder ähnliche Mittel gebracht. In der US-A-4569784 (Moore) wird die Herstellung eines Gels mit Gastransporteigenschaften zur Anwendung auf der Haut beschrieben. Das aufwendige Verfahren besteht darin, daß eine mit Wasser nicht mischbare organische Flüssigkeit, z. B. ein Fluorcarbon, in Gegenwart eines Emulgators durch ein Emulgierverfahren emulgiert wird. Es schließt sich ein Konzentrierungsprozeß an (z. B. Ultrazentrifugierung, Ultrafiltration), der zur Bildung einer Gel-Phase führt. In dem dann folgenden dritten Schritt wird die Trennung der klaren Flüssigkeit von dem pastösen Feststoff (Gel-Phase) durch Dekantieren, Filtrieren oder Verdampfen bewirkt. Dieses Gel wird in geeigneten Formulierungen auf der Haut angewendet, und es wirkt dort, ohne jedoch das Stratum corneum zu durchdringen.

In der EP-A-296661 (Borgarello) wird ein Fluorcarbon-haltiges Einphasensystem beschrieben, das als isotrope oder anisotrope Formulierung im kosmetischen Bereich und auch als Dermatikum als Sauerstofftransporteur wirken kann. Dabei werden Fluorcarbone mit einer maximalen Konzentration von 50 % mit perfluorisierten Emulgatoren vom Alkansulfonsäureamid-Typ in Gegenwart eines aliphatischen Alkohols als Hilfsemulgator in Wasser emulgiert.

Bei den beschriebenen bekannten Verfahren wirken die beschriebenen Zusammensetzungen, die Fluorcarbone enthalten, systembedingt auf der Haut am Ort ihrer Aufbringung.

Der vorliegenden Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, das Stratum corneum der Haut und die Epidermis durch Penetrationsvorgänge zu überwinden, um im corialen Bereich und dem daran angrenzenden Gewebe die Sauerstoffkonzentration zu erhöhen und Stoffwechselvorgänge zu aktivieren.

Erfundungsgemäß besteht das Dermatikum zur Unterstützung des Sauerstofftransports in der Haut aus asymmetrischen lamellaren Aggregaten, die sich aus Phospholipiden aufbauen, die in ihrem Kern im Unterschied zu den gut bekannten wäßrigen Liposomen Fluorcarbone oder Gemische davon enthalten. Das erfundungsgemäße Dermatikum besteht somit aus asymmetrischen lamellaren Aggregaten, die aus Phospholipiden und mit sauerstoffbeladenem Fluorcarbon oder Fluorcarbongemisch bestehen, wobei der Anteil an Fluorcarbon im Bereich von 1 bis 100 % w/v (w/v = Gewicht/Volumen) liegt, in einem für die dermatologische Anwendung geeigneten Trägerstoff.

Die lamellaren Aggregate sind wegen ihrer Phospholipidstruktur, die den Zellmembranen strukturell und chemisch sehr ähnlich ist bzw. zum Teil identisch ist, sowie in Verbindung mit ihrer bei der Herstellung steuerbaren Größe der Aggregate in der Lage, in tiefer liegenden Hautschichten zu penetrieren und dort wirksam zu werden. Dies erfolgt im Gegensatz zu den im Stand der Technik genannten Erfindungsbeschreibungen, die

nicht den Transport der Fluorcarbone in tieferliegende Regionen der Haut gestatten. Die bekannten Verfahren sind in Bezug auf den beanspruchten Effekt wirkungslos.

Es können eine Vielzahl von Fluorcarbonen eingesetzt werden, z.B. aliphatische geradkettige und verzweigte Fluoralkane, mono- oder bicyclische und gegebenenfalls fluoralkylsubstituierte Fluorcycloalkane, perfluorierte aliphatische oder bicyclische Amine, Bis-(perfluoralkyl)-Ethene oder deren Gemische. Besonders bevorzugt sind solche Fluorcarbone wie Perfluordecalin, F-Butyltetrahydrofuran, Perfluortributylamin, Perfluoroctylbromid, Bis-Fluor(Butyl)ethen oder Bis-Fluor(Hexyl)ethen oder C<sub>6</sub>-C<sub>9</sub>-Perfluoralkane.

Dabei liegt der Anteil an Fluorcarbonen im Bereich von 1 bis 100 % w/v, vorzugsweise im Bereich von 40 bis 100 %. Ein besonders bevorzugter Bereich ist der von 70 bis 100 % w/v.

Als Phospholipide werden erfindungsgemäß natürliche Phospholipide wie Sojalecithin und Eilecithin, synthetische Phospholipide sowie hydrierte Lecithine, z.B. Phospholipone H eingesetzt. Bei diesen Phospholipiden liegt der Gehalt an Phosphatidylcholin im Bereich von 10 bis 99 Gew.-%, vorzugsweise 30 bis 99 Gew.-%, insbesondere 70 bis 99 Gew.-%, d.h. Phospholipide mit hohen Phosphatidylgehalten sind bevorzugt.

Neben Phosphatidylcholin können auch Lysolecithine im Konzentrationsbereich von 0,1 bis 10 Gew.-% und/oder geladene Phospholipide wie Phosphatidylethanolamin, n-Acetylphosphatidylethanolamin oder Phosphatidsäure im Konzentrationsbereich 0,1 bis 30 Gew.-% vorhanden sein.

Im Unterschied zu den bekannten wässrigen Liposomen (Vesikel) tragen die erfindungsgemäßen Phospholipid-stabilisierten Aggregate in ihrem Kern hydrophobe Fluorcarbone, die zum Transport von Sauerstoff befähigt sind. Ihre grenzflächenchemische Stabilisierung erfolgt primär durch eine Monolayer mit inver-

ser Anordnung und sekundär durch einen sich daran anschließenden Aufbau von Bilayer- Schichten. Erfindungsgemäß weisen die asymmetrischen lamellaren Aggregate daher zumindest immer eine dreischichtige Struktur auf im Unterschied zu den zweischichtigen bekannten Vesikeln. Wegen der Besonderheit ihrer strukturellen Anordnung werden diese neuartigen Aggregate als asymmetrische lamellare Sauerstoff-Carrier bezeichnet. Ihre außergewöhnliche kolloidchemische Stabilität ist vermutlich auf die lamellare Struktur und auf die Oberflächenladung der Aggregate zurückzuführen. Letztere ist auf die Auswahl geeigneter Phospholipide beziehungsweise deren Mischungen natürlicher wie auch synthetischer Provenienz zurückzuführen. In erster Linie sind für eine vorteilhafte Wirkung in diesem Sinne Phospholipide, insbesondere Phosphatidylcholin im genannten Konzentrationsbereich von 10 bis 99 % in Verbindung gegebenenfalls mit Lysolecithinen der Konzentration von 0,1 bis 10 % und/oder geladenen Phospholipiden im Konzentrationsbereich 0,1 bis 30 Gew.-% verantwortlich. Die angesprochene Wirkung der Phospholipide wird durch entsprechende negative Zeta-Potentiale und durch die Messung von Ladungsdichten (bei Titration mit einem kationischen Polyelektrolyten) verifiziert.

Die Abhängigkeit der Penetrationsgeschwindigkeit und der Eindringtiefe von der Teilchengröße der Aggregate konnte durch separate Untersuchungen im Tierexperiment mit markierten verkapselten Fluorcarbonen experimentell bestimmt werden. Danach wandern kleinere Teilchen schneller und tiefer in das Hautgewebe als größere Partikel. Die Auswahl von Fluorcarbonen bzw. deren Mischungen nach ihrer Lipidlöslichkeit (dargestellt durch ihre kritische Löslichkeitstemperatur CST in n-Hexan) erlaubt als ein weiteres wichtiges Kriterium die Regelung der Verweilzeit im Gewebe. Während z. B. Perfluortributylamin (F-TBA, CST 59° C) mit einem hohen CST-Wert und schlechter Lipidlöslichkeit eine größere Verweilzeit aufweist, wird im Gegensatz dazu Perfluordecalin (PFD, CST 22° C) aber auch F-Butyl-tetrahydrofuran, F-Hexan und andere entsprechend schneller aus dem Gewebe abgegeben. Mit Hilfe von Fluorcarbonmischungen

lassen sich auf diese Weise gezielt Systeme mit gewünschten CST-Werten d. h. Lipid- und Membranlöslichkeiten bezüglich der beabsichtigten Anwendung herstellen.

Der Gehalt der Fluorcarbone als Sauerstoffträger in den lamellaren Aggregaten kann entsprechend dem Anwendungszweck zwischen 1 und 100 % w/v variieren. Als Fluorcarbone kommen insbesondere in Betracht:

aliphatische geradkettige und verzweigte Alkane mit 6 bis 12 Kohlenstoffatomen, wie z. B. Perfluorhexan, Perfluornonan; mono- oder bicyclische Cycloalkane, die gegebenenfalls F-alkylsubstituiert sind, wie z. B. Perfluormethylcyclohexan, Perfluordecalin;

aliphatische tertiäre Amine, N-haltige Polycyclen, wie z. B. Perfluortripropylamin, Perfluortributylamin;

Perfluorether, wie aliphatische Ether und Polyether, F-alkyl-Furane, bicyclische und substituierte bicyclische Ether mit 2 oder 3 Sauerstoffatomen im Molekül, wie z. B. Perfluordihexylether, Perfluorbutyltetrahydrofuran;

Perfluoralkylhalogenide, wie z. B. Perfluoroctylbromid, Perfluorhexylbromid, Perfluoroctylchlorid;

Bis-F(Alkyl)ethene, wie z. B. Bis-F(Butyl)ethen, Bis-F(Hexyl)ethen.

Unter dem hier verwendeten Begriff "Fluorcarbone" werden perfluorierte oder hochfluorierte Kohlenstoffverbindungen oder Gemische verstanden, die in der Lage sind, Gase wie O<sub>2</sub> und CO<sub>2</sub> zu transportieren. Hochfluorierte Kohlenwasserstoffverbindungen sind im Sinne dieser Erfindung solche, bei denen die meisten Wasserstoffatome durch Fluoratome ersetzt sind, wie z.B. die Bis-F(Alkyl)ethene, die nachweislich chemisch und biologisch inert und damit untoxisch sind. Dies wird meist dann erreicht, wenn etwa bis zu 90 % der Wasserstoffatome durch Fluoratome ersetzt sind. Bevorzugt im Sinne der vorliegenden Erfindung sind Fluorcarbone, bei denen wenigstens 95 % der Wasserstoffatome ersetzt sind, bevorzugter 98 % und am bevorzugtesten 100 %.

Es können auch einzelne Fluoratome durch andere Halogenatome wie Brom oder Chlor ersetzt sein.

Als Phospholipide kommen natürlich auftretende Phospholipide wie Soja- oder Eilecithin in Frage, sowie auch synthetisch herstellbare Lecithine (Phospholipide), die insgesamt als hautfreundlich bekannt sind. Wegen der vorteilhaften Wirkung auf die Stabilität der asymmetrischen lamellaren Aggregate kommen vorzugsweise Phospholipidmischungen mit einem Anteil von 10 bis 99 % an Phosphatidylcholin neben weiteren natürlich auftretenden Begleitprodukten zur Verwendung. Der Phospholipidgehalt in der dermatologischen Formulierung bewegt sich zwischen 0,5 und 20, vorzugsweise 10 bis 20 %..

Die Erfindung betrifft auch ein Verfahren zur Herstellung eines Phospholipide enthaltenden Dermatikums, das darin besteht, daß Phospholipide emulgiert werden mit einem Fluorcarbon oder einem Fluorcarbongemisch, welches mit Sauerstoff beladen ist, wobei der Anteil an Fluorcarbon im Bereich von 0,2 bis 100 % w/v liegt, und die dabei erhaltenen asymmetrischen lamellaren Aggregate mit einer Teilchengröße von 50 bis 1000 nm in einem für die dermatologische Anwendung geeigneten Träger eingearbeitet werden. Die Emulgierung erfolgt in Anwesenheit von Wasser und gegebenenfalls unter Zusatz von einwertigen oder mehrwertigen aliphatischen Alkoholen. Die Emulgierung kann auch erfolgen durch eine Voremulgierung der Rohdispersion durch Zugabe des Fluorcarbons zu einer wässrigen Phospholipidlösung bei einer Temperatur entsprechend den eingesetzten Ausgangsstoffen. Die Voremulgierung erfolgt zweckdienlich bei höheren Umdrehungszahlen, z. B. 12000 bis 15000 U/min. Die eigentliche Homogenisierung erfolgt dann in einem Hochdruckhomogenisator. Die Homogenisierung kann auch mit anderen bekannten Verfahren wie zum Beispiel Ultraschall erfolgen. Der Grad des Energieeintrags in das disperse System wirkt sich indirekt proportional auf die Teilchengrößen aus.

Eine Hitzesterilisierung im Autoklaven ist ohne eine Beein-

flussung der Teilchengrößen möglich. Zur Vermeidung von Autoxydationsprozessen im ungesättigten Fettsäurerest nativer Lipide können Antioxydantien, z. B.  $\alpha$ -Tocopherol zugesetzt werden.

Besonders vorteilhaft ist der Einsatz von Phospholipiden mit hohen Phosphatidylcholingehalten. Diese liegen im allgemeinen zwischen 10 und 99 Gew.-%, vorzugsweise 30 bis 99 Gew.-%, insbesondere 70 bis 99 Gew.-%.

Als Fluorcarbone werden die oben genannten Fluorcarbone bzw. Fluorcarbongemische verwendet in den dafür angegebenen Grenzen. Mit Hilfe von deren bekannten  $O_2$ -Löslichkeiten, des Dampfdrucks und der kritischen Löslichkeitstemperatur kann vom Fachmann gezielt die Beladung mit Sauerstoff und die Eindringtiefe eingestellt werden.

Die Wirkungsweise der Fluorcarbon-haltigen asymmetrischen lamellaren Aggregate beruht auf der Abgabe von Sauerstoff an unversorgtes Gewebe über eine topische Applikation. Eine sinnvolle Anwendung ist auch denkbar für Sauerstoff-unterversorgtes Fettgewebe wie auch für arteriosklerotisch bedingte Mangelversorgungen.

Die Einarbeitung der asymmetrischen lamellaren Aggregate als wirksame Substanz in Salben, Cremes, Lotionen und anderen wässrigen oder alkoholischen dermatologischen Formulierungen erfolgt in Abhängigkeit vom Anwendungszweck, wobei der Fluorcarbongehalt und damit die  $O_2$ -Verfügbarkeit in breiten Grenzen variiert werden kann. Die Aggregate können vor der Einarbeitung in alle dermatologischen Systeme wie z.B. Gele, Pasten, Puder, Salben, Cremes, Lotionen mit gasförmigem Sauerstoff partiell beladen beziehungsweise gesättigt werden. Bereits die Sättigung mit dem Sauerstoff der atmosphärischen Luft durch die üblicherweise stattfindende Gleichgewichtseinstellung entsprechend dem Henry'schen Gesetz bietet eine höhere Sauerstoffkapazität als alle vergleichbaren bekannten Systeme.

Das erfindungsgemäße Dermatikum kann auch auf Verbände, Pflaster, Wundabdeckungen, und sonstige mit der Haut in Berührung kommende Mittel aufgebracht werden. Es kann beispielsweise auch als Spray appliziert werden.

Die Erfindung soll nachstehend durch Beispiele näher erläutert werden. In der dazugehörigen Zeichnung bedeuten

Fig.1 Diagramm der kritischen Löslichkeitstemperaturen (CST) von Perfluorcarbongemischen in n-Hexan mit Perfluordecalin als Ausgangspunkt

Fig.2 Diagramm der kritischen Löslichkeitstemperaturen von Perfluorcarbongemischen in n-Hexan mit F-Octylbromid als Ausgangspunkt.

In Tabelle 1 sind einige ausgewählte Fluorcarbone und ihre O<sub>2</sub>-Löslichkeit, ihr Dampfdruck und die kritische Löslichkeitstemperatur dargestellt. Ausgehend von diesen Werten können für Gemische von Fluorcarbonen die gewünschten Charakteristika bei der Penetrierung der Haut mit Hilfe einer dermatologischen Zusammensetzung ausgewählt werden.

Tabelle 1

Fluorcarbon	O <sub>2</sub> -Löslichkeit [ml O <sub>2</sub> /100 ml FC]	Dampfdruck P <sub>37 °C</sub> [mm Hg]	CST [°C]
Perfluoroctylbromid	50	14	-24,5
Perfluordecalin	40	12,5	22
Bis-F(Butyl)ethen	50	12,6	22,5
F-cyclohexylmethylmorpholin	42	4	38,5
F-Tripropylamin	45	18,5	43
F-Dihexylether	45	2	59
F-Tributylamin	40	1	59
Perfluordecalin-F-Tributyl-amin 1/1	40	7	42
Perfluorbutyl-tetrahydrofuran	52	51	29
F-methylcyclohexan	57	180	8,2
F-Hexan	58	414	20

Beispiel 1

50 ml einer 10%igen wässrigen Phospholipidlösung (Sojalecithin, 40 % Phosphatidylcholin (PC)) werden gemeinsam mit 80 g eines hochreinen, keine H-Atome enthaltenden Fluorcarbongemisches (90 % Perfluordecalin, 10 % F-Dibutylmethylamin, kritische Löslichkeitstemperatur 26 °C) mit einem Ultraschalldesintegrator unter Eiskühlung homogenisiert bis die Teilchen einen mittleren Durchmesser von 244 nm aufweisen. Aus  $^{31}\text{P}$ -NMR-Messungen ist anhand der typischen Signalbreite wie auch aus elektronenmikroskopischen Aufnahmen die lamellare Struktur der Aggregate aus Fluorcarbon und Phospholipid zu erkennen.

Die Aggregatdispersion lässt sich unproblematisch und ohne Beeinflussung ihrer Stabilität mit geeigneten Alkoholen (Ethanol, Propylenglycol, Glycerol) zum Zweck der Sterilisierung mischen. Ein Zusatz von 30 ml Ethanol erzeugt Keimfreiheit, wobei die resultierende Dispersion folgende Zusammensetzung aufweist:

62	% w/v	Fluorcarbone
9,7	%	Phospholipide
19	%	Ethanol

Das Zeta-Potential von minus 61 mV belegt eine durch die Phospholipide erzeugte negative Oberflächenladung mit einer elektrostatischen Stabilisierung der Dispersion. Nach Sättigung mit gasförmigem Sauerstoff wird die Dispersion in eine mit den asymmetrischen lamellaren Aggregaten verträgliche, nicht wechselwirkende Salbengrundlage eingearbeitet.

Beispiel 2

18 g lyophilisiertes Phospholipid der Zusammensetzung [30 % PC, 30 % PE (Phosphatidylethanolamin), 31 % PI (Phosphatidylinositol)] werden in 90 ml sterilisiertem Wasser gelöst und mit 16 ml unvergälltem Ethanol versetzt. Mit einem mechanischen hochtourigen Rührer (Ultra-Turrax, 15 000 U/min) wird die Dispersion gerührt und dabei nacheinander Perfluordecalin (CST 22 °C) dem auf 20 °C temperierten Rührbehälter zugesetzt.

Die

Rohdispersion wird in einem Hochdruckhomogenisator vom Typ Manton Gaulin bei 500 atm im Inertgasstrom homogenisiert. Mit Beginn des vorletzten Durchlaufs werden der Dispersion  $\alpha$ -Tocopherolacetat zur Vermeidung von Autoxidationsprozessen und als Fänger für freie Radikale im Hautgewebe zu 0,1 % zugesetzt.

Die mit dem Photonenkorrelationsspektrometer N-4 MD (Coultronics) durchgeführten Messungen bestätigen das Vorliegen einer unimodalen Teilchengrößenverteilung und einen mittleren Teilchendurchmesser von 128 nm. Elektronenmikroskopische Untersuchung bei Anwendung der Methode des "negative staining" sind in Übereinstimmung damit. Nach  $^{31}\text{P}$ -NMR-Untersuchungen liegen die asymmetrischen lamellaren Aggregate im unilamellaren Zustand vor mit einem Zeta-Potential von minus 76 mV.

Die Zusammensetzung der Dispersion beträgt

48 % w/v Perfluordecalin

13 % Phospholipide

9 % Ethanol.

### Beispiel 3

80 g n-F-Hexan, das im Gemisch mit seinen perfluorierten Isomeren vorliegt (CST 20 °C) wurden mit 9,5 Gramm Eigelb 3-sn Phosphatidylcholin in 47 ml deionisiertem und sterilisiertem Wasser unter Inertgasbedingungen bei Zusatz von 0,2 % dl- $\alpha$ -Tocopherol zu einer Rohdispersion mechanisch voremulgiert. Die Rohemulsion wurde im Druckhomogenisator bei Drücken von 500 atm bei einem geeigneten Temperaturregime und unter Kontrolle der Teilchengrößen homogenisiert. Die erhaltene Dispersion weist eine mittlere Viskosität und einen Teilchendurchmesser von 294 nm auf. Nach Zusatz von 8 ml Propylenglycol wurde im Langzeitversuch Stabilität und Keimfreiheit (Keimzahl kleiner als 100 K/g) bei Raumtemperatur beobachtet. Eine Verdünnung, z.B. bei der Herstellung von Lotionen, ist ohne eine Änderung wichtiger kolloidchemischer Parameter problemlos möglich.

Untersuchungen der Dispersion mit dem Lichtmikroskop im polarisierten Licht zeigen das Vorliegen eines isotropen Einpha-

sensystems an, in dem flüssig-kristalline Strukturen nicht existent sind.

Beispiel 4

In vivo Nachweis der Liposomen-Penetration

Eine frisch isolierte physiologisch intakte Haut wurde mit ihrer Innenseite auf einen O<sub>2</sub>-Sensor (Clark-Elektrode) fixiert und die Epidermis mit einer O<sub>2</sub>-transportierenden Dispersion mit asymmetrischen lamellaren Aggregaten benetzt. Unter diesen Bedingungen zeigt die Elektrode keinen O<sub>2</sub>-Partialdruck an. Nach 57 Minuten Penetrationsdauer hatten die Aggregate den dermalen Hautabschnitt im Meßbereich der Elektrode erreicht. Der O<sub>2</sub>-Partialdruck stieg auf einen Wert von 159 mm Hg an. Die Penetrationsgeschwindigkeit in der Haut ist abhängig von Art und Größe der Aggregate.

**Patentansprüche**

1. Dermatikum zur Unterstützung des Sauerstofftransportes in der Haut, gekennzeichnet durch asymmetrische lamellare Aggregate, bestehend aus Phospholipiden und mit Sauerstoff beladenem Fluorcarbon oder Fluorcarbongemisch, wobei der Anteil an Fluorcarbon im Bereich von 0,2 bis 100 % Gewicht/Volumen liegt, in einem für die dermatologische Anwendung geeigneten Träger.
2. Dermatikum nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die lamellaren Aggregate von deren Fluorcarbon-Kern ausgehend eine asymmetrische, vorzugsweise dreischichtige Struktur aufweisen.
3. Dermatikum nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Fluorcarbone aus der Gruppe ausgewählt sind, die aus aliphatischen geradkettigen und verzweigten Fluoralkanen, mono- oder bicyclischen gegebenenfalls fluoralkylsubstituierten Fluorcycloalkanen, perfluorierten aliphatischen oder bi-cyclischen Aminen, Bis-(perfluoralkyl)-ethenen oder deren Gemischen besteht.
4. Dermatikum nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Fluorcarbone aus der Gruppe ausgewählt sind, die aus Perfluor-decalin, F-Butyltetrahydrofuran, Perfluortributylamin, Perfluoroctylbromid, Bis-Fluor(butyl)ethen oder C<sub>6</sub>-C<sub>9</sub>-Perfluoralkanen besteht.
5. Dermatikum nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß der Anteil an Fluorcarbonen im Bereich von 20 bis 100 % Gewicht/Volumen liegt, vorzugsweise im Bereich von 40 bis 100 %.
6. Dermatikum nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Anteil an Fluorcarbon im Bereich von 70 bis 100 % Ge-

wicht/Volumen liegt.

7. Dermatikum nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß die Phospholipide ausgewählt sind aus der Gruppe, bestehend aus natürlichen Phospholipiden wie Sojalecithin und Eilecithin, synthetischen Phospholipiden hydrierten Lecithinen und/oder teilhydrierten Phospholipiden, wobei die Konzentration der Phospholipide im Bereich von 0,5 bis 20 % liegt.

8. Dermatikum nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß Phosphatidylcholin in einem Anteil von 10 bis 99 Gew.-%, vorzugsweise 30 bis 99 Gew.-%, insbesondere 60 bis 90 % vorhanden ist.

9. Dermatikum nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß die verwendete Lipidfraktion neben Phosphatidylcholin Lysolecithine im Konzentrationsbereich von 0,1 bis 5 Gew.-% enthält.

10. Verfahren zur Herstellung eines Dermatikums zur Unterstützung des Sauerstofftransportes in der Haut, dadurch gekennzeichnet, daß Phospholipide emulgiert werden mit einem mit Sauerstoff beladenen Fluorcarbon oder Fluorcarbongemisch, wobei der Anteil an Fluorcarbon im Bereich von 0,2 bis 100 % Gewicht/Volumen liegt, und die dabei erhaltenen asymmetrischen lamellaren Aggregate mit einer Teilchengröße von 50 bis 1000 nm in einen für die dermatologische Anwendung geeigneten Träger eingearbeitet werden.

11. Verfahren nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, daß die Fluorcarbone aus der Gruppe ausgewählt sind, die aus aliphatischen geradkettigen und verzweigten Fluoralkanen, mono- oder bicyclischen gegebenenfalls fluoralkylsubstituierten Fluorcycloalkanen, perfluorierten aliphatischen oder bi-cyclischen Aminen, Bis-(perfluoralkyl)-ethenen oder deren Gemischen ausgewählt sind, und vorzugsweise aus der Gruppe ausge-

ethen oder C<sub>6</sub>-C<sub>9</sub>-Perfluoralkanen besteht.

12. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß der Anteil an Fluorcarbonen im Bereich von 20 bis 100 % Gewicht pro Volumen liegt, vorzugsweise im Bereich von 40 bis 100 % und der Anteil an Phosphatidylcholin in der verwendeten Lipidfraktion im Bereich von 10 bis 99 Gew.-%, vorzugsweise 60 bis 90 %.

13. Verfahren nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, daß die Teilchengröße im Bereich von 120 bis 820 nm liegt, vorzugsweise zwischen 140 und 400 nm.

14. Verwendung eines Dermatikums zur Steuerung der Sauerstoffversorgung der Haut durch Auftragen eines Systems mit einem asymmetrischen lamellaren Sauerstoff-Carrier, enthaltend Phospholipide und Fluorcarbone, wobei die Fluorcarbone im Bereich von 0,2 bis 100 % Gewicht/Volumen liegen und wobei die Penetration in die Haut über die Carrier-Struktur der Phospholipid-Aggregate und die kritische Löslichkeitstemperatur der Fluorcarbone (in n-Hexan) gesteuert wird, und das System in einem für die dermatologische Anwendung üblichen Träger wie Salben, Cremes, Lotionen, Wässer, alkoholische Auszüge, Pasten, Puder, Gele, Tinkturen verteilt vorliegt.

15. Verwendung nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, daß das System auf einem Verband oder einem Pflaster aufgetragen ist oder mittels eines Sprays appliziert wird.

Fig. 1

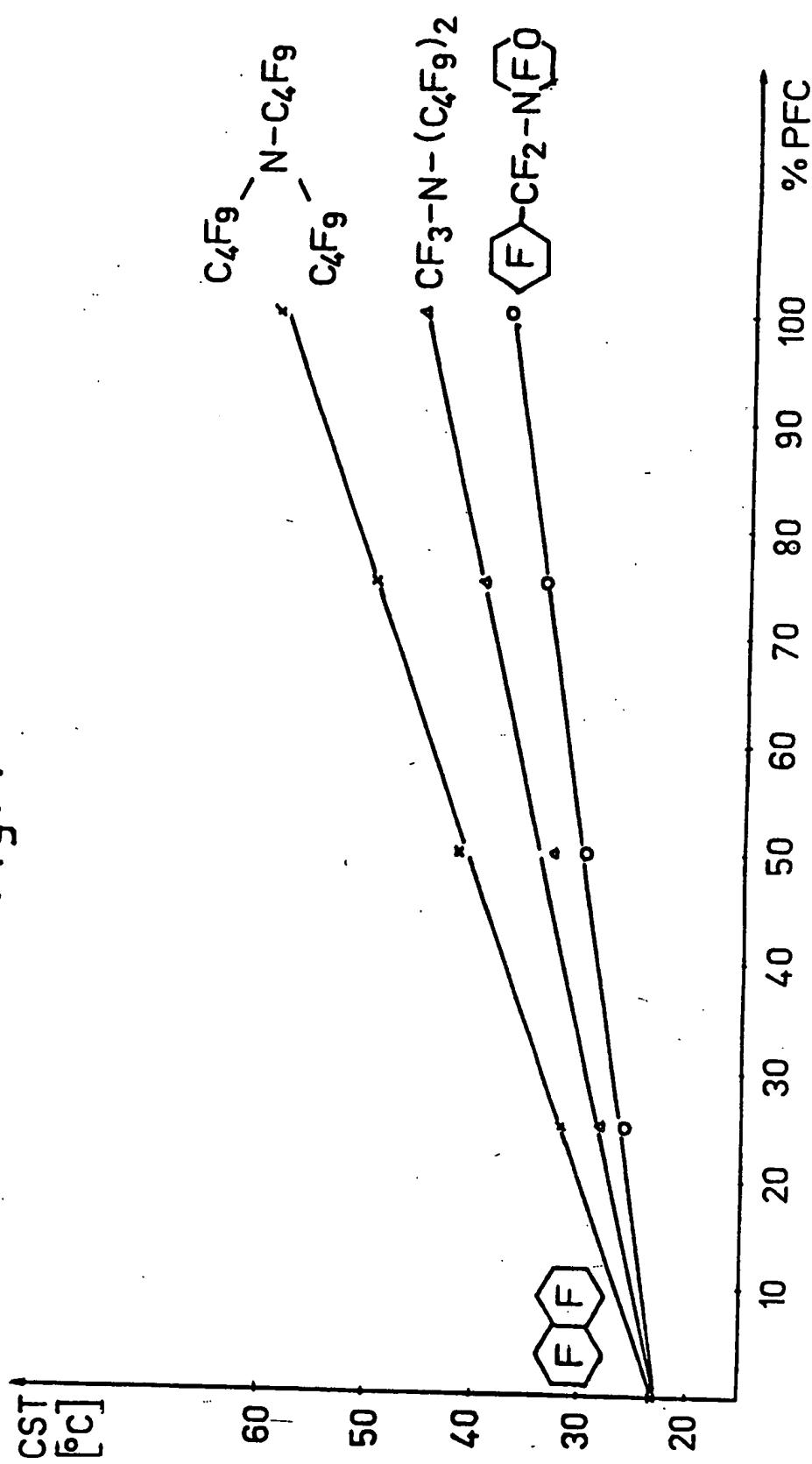
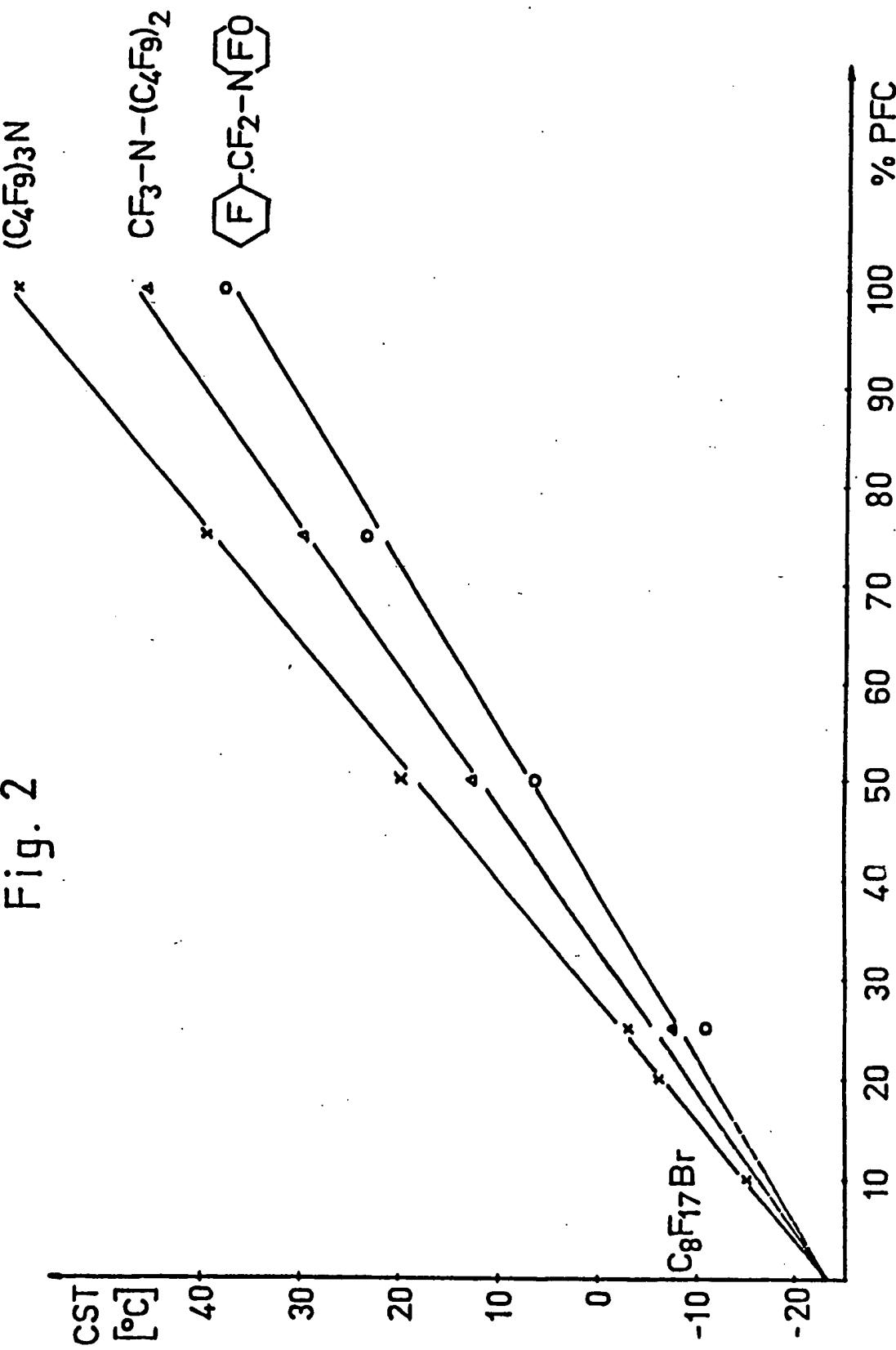


Fig. 2



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/DE 93/00572

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. Cl. 5 A61K9/127; A61K31/02; A61K31/025; A61K31/13; A61K31/34

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int. Cl. 5 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	DE, A, 4 127 442 (ZENTRALINSTITUT FÜR ANORGANISCHE CHEMIE) 18 February 1993 see the whole document see column 4, line 34 - line 41 ---	1-14
Y	WO, A, 9 206 676 (MICRO VESICULAR SYSTEMS). 30 April 1992 see the whole document see page 11 - page 12; example 3 ---	1-15
Y	WO, A, 8 908 459 (ALPHA THERAPEUTIC CORPORATION) 21 September 1989 see the whole document ---	1-15

 Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

## \* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&amp;" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

18 October 1993 (18.10.93)

Date of mailing of the international search report

26 October 1993 (26.10.93)

Name and mailing address of the ISA/

EUROPEAN PATENT OFFICE

Facsimile No.

Authorized officer

Telephone No.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/DE 93/00572

**C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO, A, 9 100 110 (LONG) 10 January 1991 see the whole document see page 13, line 2 - line 33 ---	1-15
A	WO, A, 9 116 068 (HAYNES) 31 October 1991 see figure 1 see page 25, line 20 - line 32 ---	1,2

ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT  
ON INTERNATIONAL PATENT APPLICATION NO.

DE 9300572  
SA 76783

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report.  
The members are as contained in the European Patent Office EDP file on  
The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information. 18/10/93

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
DE-A-4127442	18-02-93	None		
WO-A-9206676	30-04-92	US-A- 5160669 AU-A- 8947691 CA-A- 2093526 EP-A- 0558571		03-11-92 20-05-92 17-04-92 08-09-93
WO-A-8908459	21-09-89	EP-A- 0417104 JP-A- 2258050 US-A- 5061484		20-03-91 18-10-90 29-10-91
WO-A-9100110	10-01-91	EP-A- 0480925		22-04-92
WO-A-9116068	31-10-91	US-A- 5091188 AU-A- 7852891 EP-A- 0533690 US-A- 5091187 US-A- 5246707		25-02-92 11-11-91 31-03-93 25-02-92 21-09-93

I. KLASSEFIKATION DES ANMELDUNGSGEGENSTANDS (bei mehreren Klassifikationssymbolen sind alle anzugeben)<sup>6</sup>

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC

Int.K1. 5 A61K9/127; A61K31/02; A61K31/025; A61K31/13  
A61K31/34

## II. RECHERCHIERTE SACHGEBiete

Recherchierte Mindestprüfstoff<sup>7</sup>

Klassifikationssystem	Klassifikationssymbole
Int.K1. 5	A61K

Recherchierte nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Sachgebiete fallen<sup>8</sup>III. EINSCHLAGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN<sup>9</sup>

Art. <sup>10</sup>	Kennzeichnung der Veröffentlichung <sup>11</sup> , soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile <sup>12</sup>	Betr. Anspruch Nr. <sup>13</sup>
P, X	DE, A, 4 127 442 (ZENTRALINSTITUT FÜR ANORGANISCHE CHEMIE) 18. Februar 1993 siehe das ganze Dokument siehe Spalte 4, Zeile 34 - Zeile 41 ---	1-14
Y	WO, A, 9 206 676 (MICRO VESICULAR SYSTEMS) 30. April 1992 siehe das ganze Dokument siehe Seite 11 - Seite 12; Beispiel 3 ---	1-15
Y	WO, A, 8 908 459 (ALPHA THERAPEUTIC CORPORATION) 21. September 1989 siehe das ganze Dokument ---	1-15 -/-

<sup>10</sup> Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen<sup>10</sup>:

- "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- "E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldeatum veröffentlicht worden ist
- "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldeatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

- "T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldeatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
- "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als neu oder auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden
- "Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
- "&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

## IV. BESCHEINIGUNG

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

18. OKTOBER 1993

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

26. 10. 93

Internationale Recherchenbehörde

EUROPAISCHES PATENTAMT

Unterschrift des bevollmächtigten Beauftragten

BENZ K.F.

## III. EINSCHLAGIGE VEROFFENTLICHUNGEN (Fortsetzung von Blatt 2)

Art °	Kennzeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	WO,A,9 100 110 (LONG) 10. Januar 1991 siehe das ganze Dokument siehe Seite 13, Zeile 2 - Zeile 33 ----	1-15
A	WO,A,9 116 068 (HAYNES) 31. Oktober 1991 siehe Abbildung 1 siehe Seite 25, Zeile 20 - Zeile 32 -----	1,2

ANHANG ZUM INTERNATIONALEN RECHERCHENBERICHT  
ÜBER DIE INTERNATIONALE PATENTANMELDUNG NR.

DE 9300572  
SA 76783

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten internationalen Recherchenbericht angeführten Patentdokumente angegeben.

Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am  
Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

18/10/93

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
DE-A-4127442	18-02-93	Keine		
WO-A-9206676	30-04-92	US-A-	5160669	03-11-92
		AU-A-	8947691	20-05-92
		CA-A-	2093526	17-04-92
		EP-A-	0558571	08-09-93
WO-A-8908459	21-09-89	EP-A-	0417104	20-03-91
		JP-A-	2258050	18-10-90
		US-A-	5061484	29-10-91
WO-A-9100110	10-01-91	EP-A-	0480925	22-04-92
WO-A-9116068	31-10-91	US-A-	5091188	25-02-92
		AU-A-	7852891	11-11-91
		EP-A-	0533690	31-03-93
		US-A-	5091187	25-02-92
		US-A-	5246707	21-09-93